



TITLE:

Evolution of Plastid RNA Editing Sites and
Molecular Strategy of New Target
Acquisition by PPR Protein(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Ishibashi, Kota

CITATION:

Ishibashi, Kota. Evolution of Plastid RNA Editing Sites and Molecular Strategy of New Target Acquisition by PPR Protein. 京都大学, 2020, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22284>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要旨は2020-04-01に公開

(続紙 1)

京都大学	博 士 (理 学)	氏名	石橋 幸大
論文題目	Evolution of Plastid RNA Editing Sites and Molecular Strategy of New Target Acquisition by PPR Protein (葉緑体 RNA 編集の進化と、PPR タンパク質による新規標的獲得のための分子戦略)		
(論文内容の要旨)			
<p>RNA編集は、ゲノム情報をRNA上で書き換える過程であり、被子植物では、ミトコンドリア及びプラスチドで500程度のシチジン残基がウリジンに脱アミノ化される。編集の標的認識には、編集されるシチジンの5'側の配列（シス配列）が関わり、それを認識するのが、配列特異的RNA結合活性をもつPPRタンパク質のPLSサブファミリーのメンバーである。</p> <p>RNA編集部位は、近縁種間でもある程度の多様性が見られる。石橋氏は、基部被子植物であるアンボレラ（<i>Amborella trichopoda</i>）のプラスチドのRNA編集をゲノム規模で解析し、184のRNA編集部位を特定した。この数は、単子葉、真正相子葉植物のものに比べて、かなり多いものであった。アンボレラのRNA編集部位は、編集されるコドン、編集部位の5'側直近の塩基、編集を受ける遺伝子の偏りなどにおいて、他の被子植物のものと類似していた。このことは、アンボレラを含めて、被子植物では、プラスチドのRNA編集装置が保存されていることを示唆している。さらに、アンボレラと、被子植物の系統樹の枝別れの鍵を握る位置を占める38種の植物において、編集部位を比較した。その結果、アンボレラで保存されている60%以上の編集部位が、いずれかの被子植物に存在していることが明らかになった。そのことから、アンボレラは、被子植物の祖先型に近い編集部位を残していることが示唆された。その結果、RNA編集部位の消失と獲得を系統樹上に記載することが可能になった。被子植物の進化において、プラスチドのRNA編集部位は、獲得よりずっと高い頻度で消失していることが明らかになった。</p> <p>RNA編集部位の消失は、ゲノム上でシチジンからチミンへの変更を伴い、その後、その部位の認識に関わるPPRタンパク質が消失すると考えられる。では、新しいRNA編集部位の獲得は、どのような分子メカニズムで行われたのであろうか？一般に、PPRタンパク質は、複数のシス配列を認識するが、しばしばシス配列間に相同性が見られない。PPRタンパク質は、どのように異なる配列を認識するのであろうか？シロイヌナズナのPPRタンパク質であるCRR22は、<i>rpoB-3</i>、<i>ndhD-5</i>、<i>ndhB-7</i>の3か所のRNA編集部位の認識に関わる。<i>rpoB-3</i>は、被子植物で広く保存されるが、<i>ndhD-5</i>と<i>ndhB-7</i>は、真正相子葉植物にのみ見られる。したがって、CRR22は、元々<i>rpoB-3</i>部位を認識していたが、真正相子葉植物の進化の間に、<i>ndhD-5</i>と<i>ndhB-7</i>部位の認識能を獲得したと考えられる。そこで、基部被子植物のアンボレラと単子葉植物のイネ、トウモロコシ、真正相子葉植物のインゲンマメ、タバコよりCRR22のオルソログをクローニングし、シロイヌナズナの<i>crr22-1</i>変異株に形質転換し、3つの部位の編集の相補を調べた。その結果、石橋氏の作業仮説と矛盾しない結果が得られた。一つの例外は、<i>ndhD-5</i>部位をもたないアンボレラのCRR22が、シロイヌナズナでこの部位を編集したことである。PPRタンパク質は、編集が必要でない部位も、潜在的に認識する能力を保持している場合があることが明らかになった。PPRタンパク質は、PPRモチーフ中</p>			

(続紙 2)

の5番目と35番目の位置のアミノ酸の組み合わせで、認識する塩基を決定する(PPRコード)。しかし、シロイヌナズナを含めた6種の中で、PPRコードを決定する残基に大きな違いはなかった。すなわち、CRR22は、PPRコードの変更なしに、新たな配列を認識する能力を獲得した。

CRR22の中で、ndhD-5とndhB-7の部位認識に貢献するPPRモチーフを調べるため、そのモチーフの機能のみを阻害し、タンパク質全体の機能に異常を与えないように各モチーフの3番目の残基に変異を導入した。CRR22は、S-P-Lの3つのPPR関連モチーフの繰り返しから成るが、Sモチーフには変異を導入できず、そのためndhB-7の認識に特異的に貢献するPPRモチーフを特定できなかった。一方、ndhD-5の認識には、6番目と9番目のLモチーフが重要であった。Lモチーフは、標的認識に関わらないと考えられていたが、石橋氏の結果はこの考えを支持しない。CRR22は、真正相子葉植物の進化の過程で、6番目と9番目のLモチーフを改変することで、ndhD-5の編集能を獲得したと考えられる。このことを調べるため、シロイヌナズナのCRR22をベースに6番目と9番目のLモチーフをイネのものと置換したところ、rpoB-3は編集したものの、ndhD-5の編集能を失った。しかし、イネのCRR22にシロイヌナズナのLモチーフを導入した機能獲得の実験は機能しなかった。PPRモチーフが、配列認識以外に編集に関わる別因子との相互作用に関わるかもしれない。

(論文審査の結果の要旨)

被子植物のRNA編集の最大の謎は、その生理的な意義である。編集は機能的なタンパク質の発現に必須であるが、植物がゲノム配列を修復せず、RNAを編集する理由は明らかではない。石橋氏の研究は、基部被子植物アンボレラに注目することで、プラスチドにおいて、被子植物の祖先型とも呼ぶべき編集パターンを明らかにし、それに基づき、系統樹に編集部位の消失、獲得の過程を書き込むことを可能にした。その結果、被子植物は、編集部位を失う進化の途上にあることが明確に示された。編集部位の消失は、ゲノムでの編集部位の修正を伴うが、しばしば、ゲノムをシチジンのまま編集を止めてしまったことを明らかにした。このことは、過去にRNA編集がゲノムの多様性獲得に貢献したことを示唆している。石橋氏の研究は、RNA編集の必要性を進化の視点で実験的に考察した点で、高く評価できる。

また石橋氏は、CRR22を材料に、PPRタンパク質が保存性の低い配列を認識する分子メカニズムの一部を解明している。PPRタンパク質の配列認識は、PPRコードにより説明されてきたが、石橋氏の研究は、それに限界があることを示している。石橋氏が示唆したPPRタンパク質の分子進化戦略は、被子植物の祖先で起きたRNA編集部位の爆発的な増加を支える分子基盤であり、その発見の意義は、一つのPPRタンパク質の問題に留まらない重要なものである。

本研究の内容の一部は、植物科学の有力国際誌の一つである、Plant Cell Physiology誌に掲載されており、国際的にも高い評価を受けている。また、残りの部分も近日中に投稿できる状態にある。石橋氏の行った研究の質は高く、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。令和2年1月21日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 2020年 4月 1日以降